

## Therapeutic Effects of Human Serum Albumin on Sperm Parameters Content in Non-Obstructive Azoospermia Patients

Azra Allahveisi<sup>1</sup>, Marya Partovyan<sup>2</sup>, Amir Abdolmaleki<sup>3</sup>, Mohammad Jafar Rezaie<sup>4</sup>, Zakaria Vahabzadeh<sup>5</sup>, Negin Chavoshinezhad<sup>6</sup>

1. Infertility Center of Best Hospital (Faculty Medicine), Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID: 0000-0002-9760-5078.

2. Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. (Corresponding Author), Tel: 087-33227310, Email: mpartovyan@yahoo.com. ORCID: 0000-0003-2317-7370.

3. Department of Operating Room, Nahavand School of Allied Medical Sciences, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran. PhD of Anatomical Sciences. ORCID:0000-0001-9541-8829

4. Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID: 0000-0001-7332-1217.

5. Associate Professor of Clinical Biochemistry, Liver and Digestive Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID:0000-0002-9854-9653

6. Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. ORCID: 0009-0005-1591-6585.

### ABSTRACT

**Background and Aim:** Infertility is considered as one of the major human health challenges. Approximately, 40% of infertility cases are associated to the azoospermia. Reactive oxidative stress (ROS) damages the spermatozoa and causes male infertility. Human serum albumin (HSA) can potentially reduce DNA damage and increase the sperm capacity for successful fertilization. In the present study we assessed the potential therapeutic effects of HSA on spermatogenic parameters, protamine gene expression and DNA fragmentation index in non-obstructive azoospermic infertile patients.

**Materials and Methods:** Testicular sperm extraction (TESE) was used to collect the testicular biopsy (to collect sperm samples) from 20 azoospermia patients (20-40 years) on the basis of the inclusion/exclusion criteria. The samples were divided into two groups of control (n=10, no intervention) and treatment (n=10, sperm samples incubated with HSA for 24hrs). Then, various spermatogenic parameters (motility, morphology, viability), DNA fragmentation, and protamine contents were assessed. The results were evaluated using SPSS software (v.19).  $p < 0.05$  was considered significant.

**Results:** Incubation of sperm with HSA (for 24 hours) can significantly ( $p < 0.05$ ) promote the progressive motility of sperm and lead to increased expression of protamine gene (type I and II). Also, HSA can significantly reduce the rate of sperm DNA fragmentation ( $p < 0.05$ ). Meanwhile, incubation with HSA had no significant effect on sperm morphology and survival rate.

**Conclusion:** Incubation of sperm extracted from infertile men with non-obstructive azoospermia (for 24 hours) can potentially increase the progressive movement and protamine content of sperm and reduce DNA fragmentation.

**Keywords:** Non-obstructive, Infertile, Azoospermia, Albumin, Protamine, DNA fragmentation

**Received:** Dec 15, 2023

**Accepted:** Oct 8, 2024

**How to cite the article:** Azra Allahveisi, Marya Partovyan, Amir Abdolmaleki, Mohammad Jafar Rezaie, Zakaria Vahabzadeh, Negin Chavoshi Nezhad. Treatment Effects of Human Serum Albumin on Sperm Parameters Content in non-Obstructive Azoospermia Patients. 2024;29(5):36-44.

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

## اثرات درمانی آلبومین سرم انسانی بر محتوای پارامترهای اسپرم در بیماران آزواسپرمی غیر

### انسدادی

عذرا الله ویسی<sup>۱</sup>، ماریه پرتویان<sup>۲</sup>، امیر عبدالملکی<sup>۳</sup>، محمدجعفر رضایی<sup>۴</sup>، ذکریا وهابزاده<sup>۵</sup>، نگین چاووشی نژاد<sup>۶</sup>

۱. مرکز ناباروری بیمارستان بعثت (دانشکده پزشکی)، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۵۰۷۸-۹۷۶۰-۰۰۲-۰۰۰۰
۲. گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. (نویسنده مسئول)، تلفن: ۰۸۷-۳۳۲۲۷۳۱۰، پست الکترونیک: mpartovyan@yahoo.com، کد ارکید: ۷۳۷۰-۲۳۱۷-۰۰۳-۰۰۰۰
۳. گروه اتاق عمل، دانشکده پیراپزشکی نهاوند، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران. کد ارکید: ۸۸۲۹-۹۵۴۱-۰۰۱-۰۰۰۰
۴. گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۱۲۱۷-۷۳۳۲-۰۰۱-۰۰۰۰
۵. دانشیار بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۹۶۵۳-۹۸۵۴-۰۰۲-۰۰۰۰
۶. گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران. کد ارکید: ۶۵۸۵-۱۵۹۱-۰۰۹-۰۰۰۰

### چکیده

**زمینه و هدف:** ناباروری یکی از بزرگ‌ترین چالش‌های سلامت انسانی در نظر گرفته می‌شود. در حدود ۴۰٪ از ناباروری به آزواسپرمی مرتبط است. در این بین، گونه‌های اکسیداتیو فعال (ROS) به اسپرم‌ها آسیب زده و منجر به ناباروری در آقایان می‌شود. آلبومین سرم انسانی (HSA) به طور بالقوه می‌تواند آسیب DNA را کاهش داده و ظرفیت اسپرم را برای لقاح موفق افزایش دهد. در این مطالعه، اثرات احتمالی درمانی HSA بر پارامترهای اسپرماتوژنیک، شاخص شکست DNA و بیان ژن پروتامین در بیماران نابارور آزواسپرمی غیر انسدادی ارزیابی شد.

**مواد و روش‌ها:** استخراج اسپرم بیضه‌ای (TESE) جهت جمع‌آوری بیوسی بیضه (به منظور دستیابی به نمونه‌های اسپرم) از ۲۰ مریض آزواسپرمی (۲۰ تا ۴۰ ساله) بر اساس معیارهای ورود/خروج استفاده شد. نمونه‌ها به دو گروه کنترل (۱۰ نفر، بدون مداخله) و درمان (۱۰ نفر، نمونه‌های اسپرمی انکوبه شده با HSA به مدت ۲۴ ساعت) تقسیم شدند. سپس پارامترهای متعدد اسپرمی (تحرک، مورفولوژی، حیات)، شکست DNA و محتوای پروتامین ارزیابی شد. نتایج توسط نرم‌افزار SPSS (v.19) ارزیابی و سطح معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) تعریف شد.

**نتایج:** انکوباسیون اسپرم با HSA (به مدت ۲۴ ساعت) می‌تواند به طور معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) تحرک پیشرونده اسپرم را ارتقا داده و منجر به بیان افزایش یافته ژن پروتامین (نوع I و II) شود. همچنین HSA می‌تواند میزان شکست DNA اسپرمی را به طور معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) کاهش دهد. در این بین، انکوباسیون با HSA اثر معنی‌داری بر مورفولوژی و نرخ حیات اسپرم نداشت.

**نتیجه‌گیری:** انکوباسیون اسپرم استخراج شده از مردان نابارور آزواسپرمی غیر انسدادی (به مدت ۲۴ ساعت) می‌تواند به طور بالقوه حرکت پیشرونده اسپرم و محتوای پروتامینی اسپرم را افزایش داده و شکست DNA را کاهش دهد.

**کلمات کلیدی:** ناباروری، آزواسپرمی، غیرانسدادی، آلبومین، پروتامین، شکست DNA

وصول مقاله: ۱۴۰۲/۹/۲۴ اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۳/۷/۲ پذیرش: ۱۴۰۳/۷/۱۷

## مقدمه

ناباروری به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مسائل بهداشت جهانی، به عدم بارداری پس از یک سال رابطه جنسی بدون استفاده از داروهای ضد بارداری اطلاق می‌شود (۱). بر اساس مطالعات، حدود ۱۵٪ از زوج‌ها، نابارور بوده و ۳۰ تا ۴۰ درصد از موارد ناباروری، به فاکتورهای اختصاصی مردانه مرتبط است (۲). عمدتاً برای افراد ناباروری که به روش‌های دارویی پاسخ مناسب نداشته باشند، استفاده از ART به‌عنوان گزینه بعدی درمان صورت می‌گیرد. همچنین طبق مطالعات پیشین، مورفولوژی اسپرم به عنوان تنها عامل تعیین کننده صحت DNA باشد معرفی نشده است بلکه به نظر می‌رسد فاکتورهای دیگری برای تعیین میزان سلامت ماده ژنتیک اسپرم مورد نیاز است (۳). اختلال در یکپارچگی DNA اسپرم می‌تواند میزان نرخ لقاح و لانه‌گزینی جنین را کاهش دهد (۴). اسپرم در موارد پاتولوژیکی همچون آزواسپرمی، با عوامل مختلف و مخربی مانند اکسیداسیون مواجه می‌شود؛ بنابراین در رویکردهای جدید درمان آزواسپرمی همچون IVF، استفاده از عوامل ضد اکسیداتیو پیشنهاد می‌گردد (۵). فرایند DNA Fragmentation (DF) در اسپرم به وجود شکستگی‌های تک یا دو رشته‌ای در DNA سلول‌های اسپرم اشاره دارد که می‌تواند توسط عوامل درونی و بیرونی ایجاد شود. عوامل ذاتی درونی شامل آپوپتوز، آسیب پروتامین و استرس اکسیداتیو باشد، در حالی که عوامل بیرونی شامل دمای نامناسب ذخیره‌سازی، شرایط دستکاری غیر ایمن و واکنش به داروها باشد (۶). فرایند DNA Fragmentation زمانی رخ می‌دهد که متراکم سازی کروماتین در اسپرماتوزنز کامل نبوده که منجر به ایجاد شکاف‌های موقت می‌گردد. گرچه اسپرم با DNA آسیب دیده دارای پتانسیل رشد است؛ اما بسته به میزان آسیب، می‌تواند بر باروری و نتایج تولیدمثل نیز تأثیر منفی بگذارد. پروتامین، مولکول مسئول کیفیت اسپرم، نقش مهمی در عملکرد این سلول و باروری دارد. پروتامین در تراکم DNA

هسته‌ای اسپرم دخیل است و تشکیل فرم هیدرودینامیکی در اسپرم‌ها را تضمین می‌کند (۷). ضمناً پروتامین از اطلاعات ژنتیکی اسپرم محافظت می‌کند، یکپارچگی و ترمیم DNA را حفظ کرده و ممکن است در القای اثرات اپی‌ژنتیک ژنوم پدری در طول اسپرماتوزنز دخیل باشد. تغییر سطح پروتامین با افزایش حساسیت به آسیب DNA در اسپرم همراه است که منجر به ناباروری یا نتایج ضعیف در روش‌های کمک باروری می‌شود (۸). تغییرات در بیان پروتامین و جهش در ژن‌های آن رابطه نزدیکی با ناباروری مردان دارد. پروتامین به‌عنوان یکی از نشانگرهای بالقوه برای تشخیص و درمان ناباروری در مردان است. یکپارچگی DNA اسپرم برای رشد جنینی سالم و نتایج موفق تولید مثل بسیار مهم است و آزمایش DF در اسپرم برای ارزیابی کیفیت و تأثیر آن بر ناباروری مردان و موفقیت تولیدمثل استفاده شده است. TESE روش آسپراسیون اسپرم از مجاری اپیدیدیم می‌باشد (۹) که در افراد مبتلا به آزواسپرمی غیر انسدادی استفاده می‌شود. با استفاده از روش غیر تهاجمی TESE، بسیاری از اسپرم‌ها را می‌توان از طریق آسپراسیون از بیضه‌ها به دست آورد (۱۰). استفاده از TESE در مردان مبتلا به آزواسپرمی غیر انسدادی ظرفیت اسپرماتوزومی را تا بیش از ۶۰٪ افزایش می‌دهد. آلبومین فراوان‌ترین پروتئین در سرم خون با بسیاری از ویژگی‌های بیولوژیکی از جمله نقش بافری، تنظیم فشار اسمزی، ثبات غشای سلولی و حامل اسید چرب، هورمون، ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه است. این عامل در طی IVF به تمام محیط‌های کشت اضافه می‌شود (۱۱). برخی از مطالعات حیوانی نشان دهنده نقش مفید آلبومین برای شتاب تحرک اسپرم و حیات آن است. همچنین شواهد معتبری وجود دارد که نشان دهنده نقش مهاری آلبومین بر پراکسیدهای لیپیدی و ظرفیت یابی اسپرم است (۱۲). در این مطالعه، محققان با هدف ارزیابی اثرات احتمالی درمانی اسپرم‌های انکوبه شده در HAS (human serum albumin) بر پارامترهای اسپرم در بیماران آزواسپرمی غیر انسدادی است. اسپرم‌ها با استفاده از

روش TESE جمع آوری شده و پس از تیمار، تحرک، قابلیت حیات، مورفولوژی، آسیب DNA و محتوای پروتئین از طریق بررسی های آزمایشگاهی ارزیابی شدند.

## مواد و روش ها

### معیارهای ورود و خروج

کلیه آقایان نابارور آزو اسپرمی غیر انسدادی گردآوری شده و صحت بیماری آنها توسط اورولوژیست و با استفاده از آزمایش اسپرموگرام، تشخیص و تأیید شدند. دامنه سنی تمامی بیماران ۴۰-۲۰ سال بوده و همچنین افراد بالای ۴۰ سال، افراد وازکتومی، افراد مبتلا به ناهنجاری های مادرزادی در مجاری منی ساز، افراد مبتلا به آزو اسپرمی غیر انسدادی و موارد تحت شیمی درمانی از مطالعه حذف شدند. نمونه ها از بیمارستان بعثت (کردستان، ایران) انتخاب شده و تعداد اسپرم، تحرک، pH، مورفولوژی و حیات اسپرم بر اساس استانداردهای WHO مورد بررسی قرار گرفتند.

### پروتکل انجام بیوپسی با استفاده از روش TESE جهت

#### آسپیراسیون اسپرم

بدین منظور، پس از بی حسی موضعی در اسکروتوم (لیدوکائین ۱٪)، پوست این ناحیه باز شده و قطعه کوچکی از بیضه با استفاده از سرنگ استریل، آسپیراسیون شد. نمونه جمع آوری شده بلافاصله به یک لوله آزمایش حاوی ۱ میلی لیتر محیط کشت Hams-F10 منتقل شد. سپس محتویات به یک ظرف پتری استریل خالی شده و با استفاده از تیغه جراحی به قطعات کوچکتر تبدیل شدند. این قطعات تحت شیکر قرار گرفته تا از بافت بیضه منفک شوند. سپس از نظر میکروسکوپی، حضور اسپرم مجدد ارزیابی شد و در صورت لزوم (جهت جمع آوری اسپرم بیشتر) این روش تکرار شد. در نهایت، نمونه های اسپرم به لوله ریخته شد و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس برای استفاده های بعدی انکوبه شدند (۱۳).

### ارزیابی شاخص های اسپرم

حیات، مورفولوژی و تحرک پیشرونده با استفاده از پروتکل - های منتشر شده قبلی به طور کامل ارزیابی شد. در این دوره، نمونه های جمع آوری شده اسپرم روی یک اسلاید ۲۲×۲۲ میلی متری قرار داده شد و ویژگی ها به صورت میکروسکوپی (۴۰۰ برابر بزرگنمایی) بررسی شد (۱۴).

### ارزیابی DF با استفاده از روش SCD

در تکنیک پراکندگی کروماتین اسپرم (SCD)، مقدار ۳۰ میکرولیتر نمونه اسپرم با ۷۰ میکرولیتر آگارز در دمای ۳۷ درجه سلسیوس مخلوط شدند و سپس به مدت ۴ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس انکوبه گردید. هر اسلاید به صورت افقی در محلول اسید هیدروکلریک (غلظت ۰.۰۸٪) به مدت ۷ دقیقه (دمای اتاق، محیط تاریک) قرار گرفت. سپس نمونه ها به مدت ۲۵ دقیقه در محلول لیزینگ قرار گرفتند. هر اسلاید با آب مقطر به مدت ۵ دقیقه شسته داده شد و با درجات نزولی الکل، آبگیری شدند. نمونه ها با محلول رنگی رایت، رنگ آمیزی شده و پس از ۱۰ دقیقه با آب معمولی شسته شدند. اسلایدها تحت فرایند میکروسکوپی با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر بررسی شدند و نهایتاً شاخص DF محاسبه شد (۱۵).

### ارزیابی بیان ژن پروتئین I و II با استفاده از تکنیک q-

#### PCR

کل محتوای RNA نمونه های اسپرمی با استفاده از کیت استخراج RNA (RNA QIAGEN) و بر اساس پروتکل تولید کننده استخراج شد. کیفیت RNA استخراج شده توسط فرایند اسپکتروفوتومتر (Shimadzu, UV1240، کیوتو، ژاپن) با نسبت جذب طول موج ۲۸۰/۲۶۰ نانومتر بررسی شد. سپس cDNA با استفاده از کیت سنتز cDNA (BioFact, Korea) تولید شد. در نهایت، سطح بیان ژن های Bax, p53 و BCL-2 با استفاده از روش qPCR و کیت مربوطه (ROX BioFact™ 2X Real-Time PCR Smart mix SYBR Green PCR master mix) ارزیابی شد.

در این رابطه، پرایمرهای PCR توسط نرم افزار Oligo

طراحی شده اند، توالی‌ها در پایگاه داده NCBI توالی یابی شد. از ژن  $\beta$ -actin به عنوان ژن Housekeeping و کنترل داخلی استفاده شد. سطح بیان ژن‌ها با استفاده از روش  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  اندازه‌گیری شد (۱۶).

جدول ۲. تأثیر استفاده از سرم آلبومین انسانی (HSA) بر پارامترهای اسپرم در مردان نابارور آزواسپرم غیر انسدادی. در تمامی داده‌ها،

|         | بیان ژن پروتامین ۲ | بیان ژن پروتامین ۱ | شکست DNA   | تحرك پیشرونده | حیات       | مورفولوژی |
|---------|--------------------|--------------------|------------|---------------|------------|-----------|
| کنترل   | ۰/۰۳±۰/۰۰۱         | ۰/۲۲±۰/۱۷          | ۶۸/۷۵±۹/۰۳ | ۰/۹۲±۰/۵۱     | ۷/۸۳±۳/۰۴  | ۱/۲۵±۰/۴۵ |
| تیمار   | ۰/۲۳±۰/۱۸          | ۱/۱۱±۰/۹۸          | ۵/۰۵±۱۲/۲۵ | ۲±۰/۰۶        | ۱۰/۸۳±۴/۴۵ | ۱/۳۲±۰/۹۲ |
| p-value | ۰/۰۱*              | ۰/۰۲*              | ۰/۰۳*      | ۰/۰۰۱*        | ۰/۰۹       | ۰/۰۹      |

سطح معنی داری  $P < ۰/۰۵$  بوده و ارقام به صورت mean±SD گزارش شده‌اند.

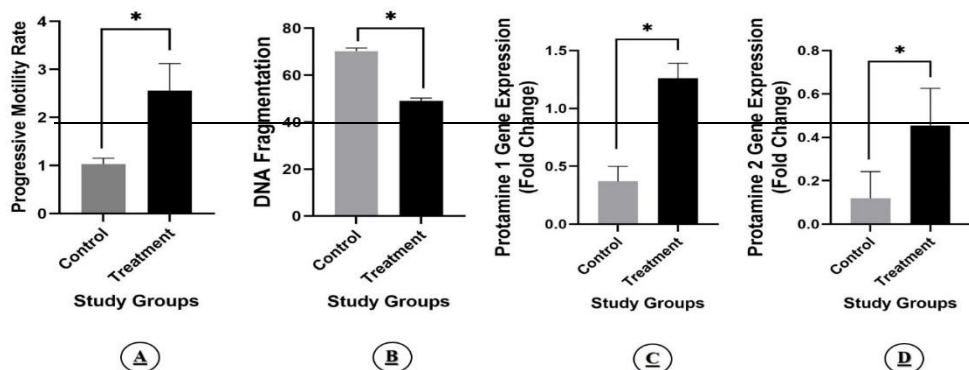
### جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده در بیان ژن پروتامین به روش qPCR.

| پرایمر         | توالی پرایمر   |
|----------------|--|
| $\beta$ -actin | F: 5-GCACCACACCTTCTACAATG-3<br>R: 5-GGGTGTGAAGGTCTCAAAC-3  |
| Protamine I    | F: 5-AAGTCGCAGACGAAGGAGG-3<br>R: 5-ATCTCGGTCTGTACCTGGGG-3  |
| Protamine II   | F: 5-AAGACGCTCCTGCAGGCAC-3<br>R: 5-GCCTTCTGCATGTTCTCTCCT-3 |

### نتایج

( $P=۰/۰۹$ ). فاکتور DF در گروه تیمار ( $۱۲/۲۵±۵۰/۵$ ) نسبت به گروه کنترل ( $۹/۰۳±۶۸/۷۵$ ) کاهش معنی‌دار نشان داد که حاکی از اثربخشی HSA بر کاهش شکست DNA اسپرم در افراد آزواسپرم غیر انسدادی است. بیان ژن پروتامین I ( $۱/۱۱ ± ۰/۹۸$ ) در گروه تیمار و ( $۰/۲۲±۰/۱۷$ ) در گروه کنترل) و II ( $۰/۱۸±۰/۲۳$ ) در گروه تیمار ( $۰/۰۱±۰/۰۳$ ) در گروه کنترل) در گروه تیمار به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داد که بیانگر اثر مثبت استفاده از HSA بر بیان ژن پروتامین و حفاظت از DNA اسپرم است (جدول ۲ و نمودار ۱).

متعاقب تیمار نمونه‌های اسپرمی افراد آزواسپرمی غیر انسدادی با سرم آلبومین انسانی (HSA)، رشد معنی‌داری ( $P=۰/۰۱$ ) در نرخ حرکت پیشرونده اسپرم‌ها در گروه تیمار ( $۰/۰۶±۰/۰۲$ ) نسبت به گروه کنترل ( $۰/۵۱±۰/۹۲$ ) مشاهده شد. در سایر پارامترهای اسپرمی اعم از مورفولوژی ( $۰/۹۲±۱/۳۲$ ) در گروه تیمار نسبت به  $۱/۲۴±۰/۴۵$  در گروه کنترل) و حیات ( $۴/۱۰±۴۵/۸۳$ ) در گروه تیمار نسبت به  $۷/۸۳±۳/۰۴$  در گروه کنترل) تغییرات معنی‌داری متعاقب تماس سرم آلبومین انسانی با اسپرم در بیماران آزواسپرمی غیر انسدادی مشاهده نشد.



نمودار ۱. یافته‌های تحرک پیشرونده اسپرم (A)، شکست DNA (B)، بیان ژن پروتامین ۱ (C) و بیان ژن پروتامین ۲ (D) در بیماران آزواسپرم غیر انسدادی. علامت \* بیانگر سطح معنی‌داری (P < ۰/۰۵) است.

## بحث

مطالعه انجام شده توسط Kalezic به بررسی ارتباط بین سطح پلاسمائی سرم البومین و تعداد و تحرک اسپرم در مردان نابارور غیر آزواسپرمی پرداخته است (۱۹). این مطالعه نشان داد که مردان نابارور غیر آزواسپرم دارای سطح پلازما و آلبومین پایین‌تری در مقایسه با مردان بارور می‌باشند؛ بنابراین سطح آلبومین پایین می‌تواند با کاهش تعداد و تحرک اسپرم همراه باشد. به نوعی می‌توان نتیجه گرفت که HSA ممکن است اثر محافظتی بر تعداد و تحرک اسپرم داشته باشد. شکست DNA به وجود شکستگی در ماده ژنتیک سلول‌ها از قبیل اسپرم اشاره دارد که می‌تواند منجر به اختلال باروری و نتایج منفی تولیدمثل شود (۲۰). اسپرم با سطوح بالایی از شکست DNA با نتایج تولید مثل ضعیف، از جمله کاهش میزان لقاح، اختلال در رشد جنین و افزایش خطر سقط جنین همراه است (۲۱). مطالعه منتشر شده توسط Oliva بیان‌کننده رابطه بین پروتامین‌ها و ناباروری است. طبق این مطالعه، تغییر در سطح پروتامین‌ها ممکن است منجر به افزایش حساسیت به آسیب DNA اسپرم شود که باعث ناباروری یا نتایج ضعیف در تولید مثل می‌گردد (۲۲). این

این پژوهش به بررسی اثر درمانی HSA بر ارتقای فاکتورهای اسپرمی، بیان ژن پروتامین و نرخ شکست DNA در اسپرم آسیب‌ر شده از بیماران آزواسپرمی غیر انسدادی پرداخت. در این مطالعه، تیمار آلبومین سرم انسانی منجر به افزایش تحرک پیشرونده اسپرم و بیان ژن پروتامین ۱ و ۲ و همچنین کاهش نرخ شکست DNA شد. بیماران آزواسپرمی غیر انسدادی به‌عنوان فرم پیشرفته‌ای از ناباروری مردان می‌باشد که با نبود اسپرم در مایع منی مشخص می‌شود (۱۷). کیفیت اسپرم یک عامل حیاتی در نرخ باروری مردان است و بر اساس مطالعات پیشین، HSA می‌تواند منجر به کاهش استرس اکسیداتیو و بروز محیطی مناسب برای بهبود عملکرد اسپرم و نتیجتاً اثر محافظتی بر کیفیت اسپرم داشته باشد (۱۸). تحرک پیشرونده اسپرم به توانایی این سلول برای حرکت در یک خط مستقیم اشاره دارد و به‌عنوان عامل مهم در بهبود عملکرد اسپرم و ارتقای باروری مطرح شده است. در بیماران آزواسپرمی، تحرک پیشرونده اسپرم مختل شده و منجر به کاهش باروری و تولید مثل می‌شود.

مورفولوژی اسپرم و همچنین کاهش شکست DNA در مردان نابارور تحت ICSI می‌شود (۲۵). اثرات درمانی بالقوه HSA بر کیفیت اسپرم در بیماران آزواسپرمی پیامدهای بالینی مهمی دارد (۲۶). مکمل HSA ممکن است یک گزینه درمانی امیدوار کننده برای بیماران آزواسپرمی یا اختلال کیفیت اسپرم باشد که منجر به بهبود باروری و نتایج تولید مثل می‌شود. بالین‌حال، تحقیقات بیشتری برای درک کامل مکانیسم‌های اثرات HSA بر کیفیت اسپرم و تعیین کاربردهای بالینی بالقوه آن در درمان ناباروری مردان مورد نیاز است.

### نتیجه‌گیری

اثرات درمانی بالقوه HSA منجر به افزایش تحرک پیشرونده اسپرم، کاهش شکست DNA و بیان سطوح بالائی از ژن پروتامین ۱ و ۲ در بیماران آزواسپرمی غیر انسدادی می‌شود؛ بنابراین احتمالاً سرم آلبومین انسانی دارای اثرات محافظتی بر کیفیت اسپرم با افزایش قدرت تحرک اسپرم و حفاظت از DNA این سلول می‌شود.

### تشکر و قدردانی

کلیه مراحل تحقیقاتی این مطالعه با رعایت ملاحظات اخلاقی مطابق با کد اخلاقی: (MUK. REC.1397.028 IR) انجام شده است. بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است. این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی کردستان انجام گرفت.

مطالعه نشان داد که HSA ممکن است با کاهش استرس اکسیداتیو و ارائه یک محیط مناسب برای عملکرد اسپرم، تأثیر محافظتی بر یکپارچگی DNA اسپرم داشته باشد و منجر به کاهش شکست DNA در بیماران آزواسپرمی شود. پروتامین-ها پروتئین‌های هسته‌ای حیاتی هستند که نقش مهمی در تراکم و یکپارچگی DNA اسپرم دارند. آن‌ها در تشکیل یک شکل متراکم و منسجم هیدرودینامیکی در اسپرم، از اطلاعات ژنتیکی محافظت می‌کنند (۲۳). بررسی انجام شده توسط امجد و همکاران به بررسی نسبت mRNA پروتامین ۱ به پروتامین ۲ در زیر گروه‌های بیماران آزواسپرمی پرداخت. آن‌ها دریافتند که این نسبت بین مردان آزواسپرمی و بارور تفاوت معنی‌داری دارد طوری که مردان آزواسپرمی دارای نسبت کمتری نسبت به افراد سالم بودند (۲۴). این معیار نشان می‌دهد که نسبت غیرطبیعی پروتامین ۱ به ۲ ممکن است با ناباروری مردان همراه باشد و افزایش نسبت ممکن است منجر به بهبود باروری و نتایج تولید مثل مناسب شود (۲۴). به نظر می‌رسد HSA با کاهش استرس اکسیداتیو و ایجاد محیطی مناسب برای عملکرد اسپرم، اثرات محافظتی بر کیفیت اسپرم داشته باشد. یک مطالعه انجام شده توسط Xue نشان داد که مکمل HSA منجر به بهبود قابل توجهی در تحرک اسپرم و کاهش شکست DNA در بیماران آزواسپرمی می‌شود. همچنین آن‌ها اثبات کردند که مکمل HSA منجر به بهبود قابل توجهی در تحرک و

### منابع

1. Vander Borgh M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. Clin. Biochem. (2018);62:2-10.
2. Zegers-Hochschild F. International Committee for monitoring assisted reproductive technology; world health organization. International committee for monitoring assisted reproductive technology (ICMART) and the world health organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009. Fertil Steril. (2009);92(5):1520.
3. Cortés-Gutiérrez E, Dávila-Rodríguez M, López-Fernández C, Fernández J, Gosálvez J. Evaluation of sperm DNA damage. Actas Urol Esp. (2007);31(2):120-31.

4. Salahshoor MR, Abdolmaleki A, Faramarzi A, Jalili C, Shiva R. Does Tribulus terrestris improve toxic effect of Malathion on male reproductive parameters? *J. pharm. bioallied sci J.* (2020);12(2):183.
5. Vorobets M, Melnyk O, Kovalenko I, Fafula R, Borzhievsky A, Vorobets Z. Condition of urogenital tract microbiotes and pro-and antioxidant system in male azoospermia *Regul. Mech. Biosyst.* (2021);12(4):696-701.
6. Agarwal A, Majzoub A, Baskaran S, Selvam MKP, Cho CL, Henkel R, et al. Sperm DNA fragmentation: a new guideline for clinicians. *The world journal of men's health.* (2020);38(4):412.
7. Aliakbari F, Abedi AR, Rezaei-Tazangi F, Taghizabet N. The Role of Protamine in Male Fertility. *MHJ.* (2019);3(1):e22-e.
8. Marzouni ET, Ilkhani H, Harchegani AB, Shafaghathian H, Layali I, Shahriary A. Epigenetic modifications, a new approach to male infertility etiology: a review. *Int J Fertil Steril.* (2022);16(1):1.
9. Kumaresan A, Das Gupta M, Datta TK, Morrell JM. Sperm DNA integrity and male fertility in farm animals: a review. *Front. vet. sci.* (2020);7:321.
10. Mangum CL, Patel DP, Jafek AR, Samuel R, Jenkins TG, Aston KI, et al. Towards a better testicular sperm extraction: novel sperm sorting technologies for non-motile sperm extracted by microdissection TESE. *TAU; Transl Androl Urol.* (2020);9(Suppl 2):S206.
11. Zander-Fox D, Villarosa L, McPherson NO. Albumin used in human IVF contain different levels of lipids and modify embryo and fetal growth in a mouse model. *JARG.* (2021);38:2371-81.
12. Tarahomi M, Vaz F, Straalen Jv, Schrauwen F, Wely Mv, Hamer G, et al. The composition of human preimplantation embryo culture media and their stability during storage and culture. *Hum. Reprod. Open.* (2019);34(8):1450-61.
13. Mehta JG. Laboratory aspects of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Donald school textbook of human reproductive & gynecological endocrinology India: JP Medical Publishers.* (2018):197.
14. Jalili C, Abdolmaleki A, Roshankhah S, Salahshoor MR. Effects of gallic acid on rat testopathy following morphine administration: an experimental study. *J. Herbmed Pharmacol.* (2022);9(1):61-7.
15. Fernández JL, Johnston S, Gosálvez J. Sperm chromatin dispersion (SCD) assay. *A Clinician's Guide to Sperm DNA and Chromatin Damage.* (2018):137-52.
16. Zamir-Nasta T, Pazhouhi M, Ghanbari A, Abdolmaleki A, Jalili C. Expression of cyclin D1, p21, and estrogen receptor alpha in aflatoxin G1-induced disturbance in testicular tissue of albino mice. *RPS.* (2021);16(2):182.
17. Tharakan T, Luo R, Jayasena CN, Minhas S. Non-obstructive azoospermia: current and future perspectives. *Faculty Reviews.* (2021);10.
18. Alquézar-Baeta C, Gimeno-Martos S, Miguel-Jiménez S, Santolaria P, Yániz J, Palacín I, et al. OpenCASA: A new open-source and scalable tool for sperm quality analysis. *PLoS Comput. Biol.* (2019);15(1):e1006691.
19. Kalezić A, Macanovic B, Garalejic E, Korac A, Otasevic V, Korac B. Level of NO/nitrite and 3-nitrotyrosine in seminal plasma of infertile men: Correlation with sperm number, motility and morphology. *Chem Biol Interact.* (2018);291:264-70.

20. Shabanizadeh A, Roshankhah S, Abdolmaleki A, Salahshoor MR. Applications of Sumach extract in reduction of male reproductive parameters damages following morphine administration through down-regulated apoptotic genes, antioxidants regulation, and inflammatory markers suppression. *EJA*. (2022);26(1):43-55.
21. JALILI C, ABDOLMALEKI A, FARAMARZI A, SALAHSHOOR MR. Effects of Thymoquinone and Busulfan on Reproductive Parameters in Male Rats: An Experimental Study. *JCDR*. (2020);14(1).
22. Oliva R. Protamines and male infertility. *Hum. Reprod. Update*. (2006);12(4):417-35.
23. Steger K, Balhorn R. Sperm nuclear protamines: A checkpoint to control sperm chromatin quality. *Anat. Histol. Embryol*. (2018);47(4):273-9.
24. Amjad S, Mushtaq S, Rehman R, Munir A, Zahid N, Siddique PQR. Protamine 1/Protamine 2 mRNA ratio in nonobstructive azoospermic patients. *Andrologia*. (2021);53(3):e13936.
25. Xue L-T, Wang R-X, He B, Mo W-Y, Huang L, Wang S-K, et al. Effect of sperm DNA fragmentation on clinical outcomes for Chinese couples undergoing in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. *Int. J. Med. Res* (2016);44(6):1283-91.
26. Torghabeh FM, Keivan M, Fakoor M, Dadfar R, Nazarzadeh M, Abdolmaleki A. Blood-derived exosomes with anti-inflammatory properties as a new minimally invasive intratesticular therapy for aflatoxin B1-associated chronic testopathy. *OMJ*. (2023) . 12 (3).